植保會刊 20: 360-365 (1978)

臺灣蕃茄簇葉病之研究(I)嫁接傳染與電子顯微鏡觀察[1]

楊 一 郎[2] 陳 脈 紀[3]

(接受日期:民國67年12月28日)

摘要:臺灣之蕃茄簇葉病,首由作者於1975年在臺南發現,本病在臺灣尚未見有報告,病徵爲花器葉化,花梗異常肥大伸長而直立叢生,葉化花異常分蘖而簇生小葉形成帚狀分枝,其病徵近似Tomato big-bud 或 Tomato "Mal Azul",病株可生長少數畸形果,惟少有結實。本病可經嫁接傳染,而其嫁接傳染發病潛伏期在35至55天。

本病病株之葉脈組織經超薄切片,電子顯微鏡觀察結果,在病組織之篩管細胞內發現多形性擬菌質體 (Mycoplasma-like organism) 之存在,擬菌質體直徑約爲 40-70nm,其形態大小及存在位置與其他已知簇葉病所發現之擬菌質體相類似,該項擬菌質體可能爲本病病原。

緒 言

Young *et al.*[17] 於 1928 年報告 Tomato witches' broom,繼後 Samuel *et al.* (1933)[14], Dana (1940)[8], Webb *et al.* (1958)[16], Bowyer *et al.* (1969)[6], Granett *et al.*(1974)[11], Dale *et al.*(1975)[7], Zimmerman *et al.*(1978)[18] 報告 Tomato big bud. Valenta *et al.* (1961)[15] 報告 Tomato yellows disease. Deloudress *et al.* (1968)[9] 報告 Tomato "Mal Azul"。又 Kunkel (1926) 等[4,12,13] 報告 Aster yellows, Patato witches' broom 等亦可使蕃茄感染。關於蕃茄擬菌質病害在臺灣尚無記載[1,2],本文第一作者於 1975 年在臺南發現蕃茄簇葉病,其病徵類似上述蕃茄萎黃型病害,乃稱蕃茄簇葉病 (Tomato witches'broom),並探究其病徵發展,嫁接傳染及病組織的電子顯微鏡觀察等,爰將研究結果提出報告,藉供參考。

材 料 與 方 法

(一)嫁接傳染 (Graft transmission):

以蕃茄健株爲砧木 (Stock, receptor),由典型蕃茄簇葉病株採取 2 至 4 公分長之病枝爲接穗 (Scion, inoculum),施以端接 (Top-working) 及腹接 (Side-working),前後經 4 個月觀察其嫁接成活率,嫁接傳染發病株率及砧木部病徵出現之潛伏期,並觀察其病徵之變化。

(二)病組織的電子顯微鏡觀察 (Electronmicroscopic observation of the diseased tissue):

以嫁接傳染所得之典型蕃茄簇葉病病株,採取病葉及花器葉化組織,沿葉脈切成 5xl mm 大小之小片,在低溫 4°C 下固定於以 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 稀釋之 4% 戊二醛 (Glutaraldehyde) 及四氧化鋨 (Osmium tetroxide) 各 2 小時,以酒精系列 (Alcohol series) 脫水後包埋於 (Epon 812) 樹脂混合液內。超薄切片以 Leitz's Fern'andez-Mor'an type 超薄切片機進行,

1. 臺灣省農業試驗所研究報告第 868 號,本試驗承行政院國家科學委員會之獎助,謹此致謝。

2. 本所植物病理系技正。 3. 國立中興大學農學院植病系教授。

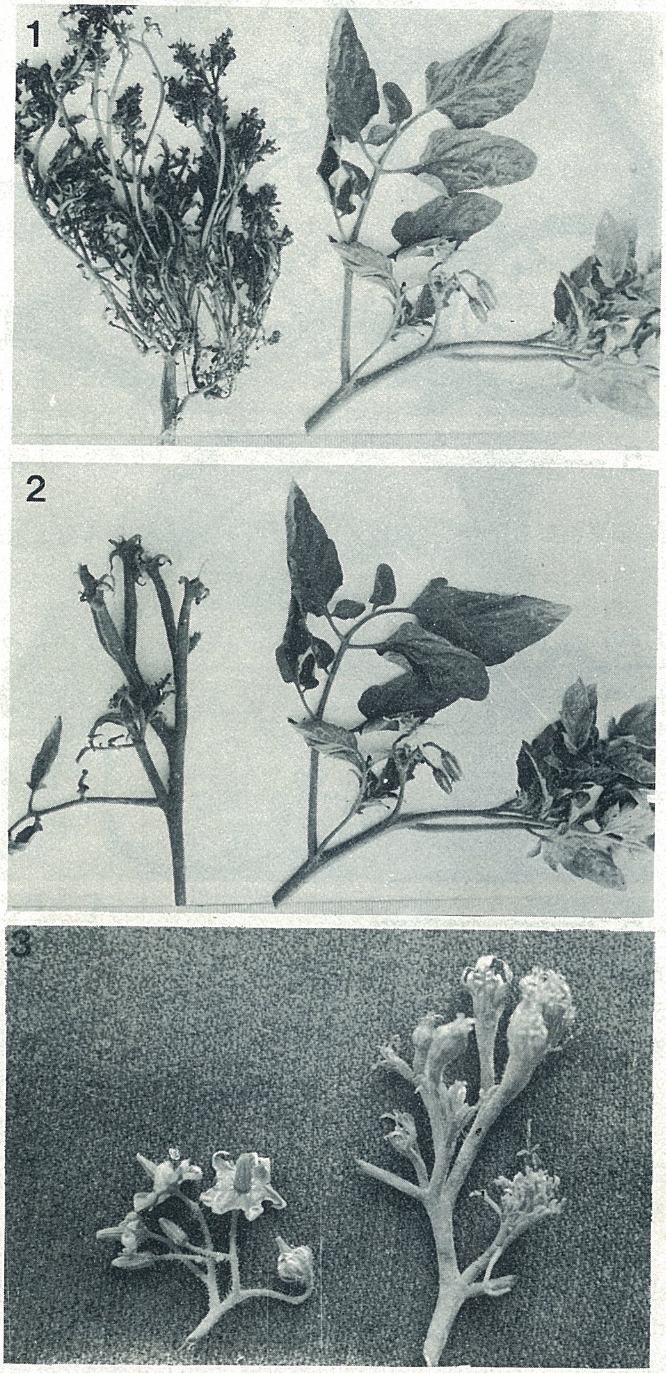

圖1－3　1．蕃茄簇葉病病株（左）與健株（右）
2．蕃茄健株（右）與簇葉病株之肥大花梗（左）
3．蕃茄健株之正常花（左）與簇葉病株之葉化花（右）

Fig. 1–3. 1. Witches' broom on tomato (left), and healthy plant (right).
2. The healthy tomato plant (right), and the diseased showing big bud like blossoms (left).
3. The healthy tomato flowers (left), and the diseased showing phylloid blossoms (right).

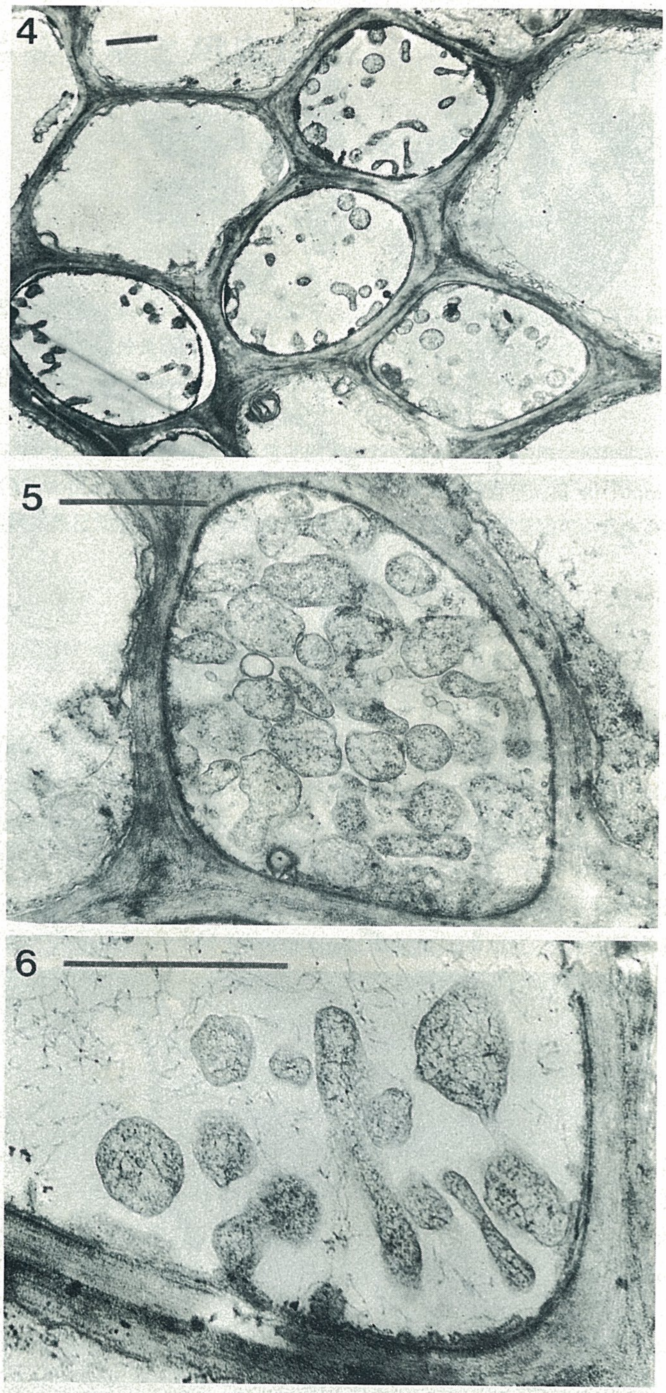

圖4－6 4． 蕃茄簇葉病株之葉脈篩管細胞之擬菌質體。
5． 篩管細胞内之多形性擬菌質體，有球形及長管形。
6． 多形性擬菌質體内有似核糧體及網狀絲。

Fig. 4–6. 4. MLO in the sieve elements of infected tomato leaf.
5. Pleomorphic bodies of MLO. Note spherical and filamentous bodies in the cell.
6. Pleomorphic bodies of MLO. Note mature bodies containing DNA-like net-strands and ribosomes.

Note: All the bars in figures indicate 1 μm.

並以醋酸鈾（Uranyl acetate）及酒石酸鉛（Lead tartrate）染色，最後以 JEM-7 型電子顯微鏡，於 80KV 下觀察之，健全葉片亦以同一方法進行包埋及觀察，藉以做爲對照。

結　　果

㈠蕃茄簇葉病病徵說明：

蕃茄簇葉病之典型病徵爲花器葉化（phyllody），花瓣綠化（virescence），花萼肥大，花梗肥大伸長（big-bud），可長達10餘公分，花瓣葉化，雄蕊葉化，雌蕊葉化而膨大並由此長出異常分蘖，由此異常分蘖繼續生長出細小分蘖，形成帚狀分蘖，病株部分芽葉紫色（purplish-blue），病株後期葉片細小黃化（yellows），而不結實（sterile），但植株在生長後期始感染者，其發病前之健全花可能結實而形成畸異小果（woody fruits），其果房內則叢生腋芽。

本病葉化花之花梗肥大伸長而直立，爲其特異顯明的病徵，此點與其他簇葉病的病徵略異，本病病徵屬萎黃型病害（圖1、2及3）。

㈡嫁接傳染：

以蕃茄健株爲砧木，簇葉病穗爲接穗，經以端接及腹接進行傳染試驗結果如次表：

表一、蕃茄簇葉病嫁接傳染試驗

Table 1. Transmission of tomato witches'broom by grafting

試驗次別 No. of experiments	供試株數 No. of plants tested	嫁接日期 Date of grafting	嫁接存活株數 No. of scions survived after grafting	發病株數 No. of plants showing symptom	潛伏期（天） Incubation period (days)
1	35	12月12日	22	22	35—44
2	24	12月17日	9	9	40—55

由上述試驗結果可知，本病爲可經由嫁接傳染之系統性傳染病。從嫁接後到砧木部呈現花器葉化病徵之潛伏期爲35至55天。冬季氣溫較低，其發病潛伏期也較長，又罹病植株開花之早晚對花器葉化病徵顯現之時間有關。本病嫁接傳染需經病穗與砧木之接合10天以上，經接合部癒合與維管束之分化聯結始可傳染，由此推測其病原存在於維管束[5,10]。

㈢病組織的電子顯微鏡觀察：

在典型簇葉病葉化花及病葉葉脈組織切片，發現在篩管細胞內有多變型擬菌質體（pleomorphic mycoplasma-like bodies）存在，在薄壁組織或葉肉組織細胞中則沒有，健株葉脈切片亦無擬菌質體的存在。擬菌質體在篩管細胞之分佈情形不一致，有的篩管細胞充滿擬菌質體，有的則零散分佈，其大小型狀亦頗不一致，有小球型、大圓型、橢圓型及曲管形等，擬菌質體由小型至大型，直徑約爲40～740nm，惟管狀者可長達 1,400nm，小球型者似爲基本小體（elementary bodies），中型及大型擬菌質體內則可觀察到明顯類似 DNA 網狀絲（net-like strands），有些菌體正在分裂（fission）（圖3.4及5）。

討 論 與 結 論

關於 Tomato yellows disease，先後由 Young 等在歐洲、澳洲、葡萄牙、美國、日本、以色

列等地報告 Tomato witches'broom, Tomato big bud, Tomato "Mal Azul", Tomato yellows disease等[6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17,18]並報告其病原與擬菌質體（Mycoplasma-like organisms）有關[6,7,9,13,18]。本病在臺灣似早有發生，惟在臺灣尚無報告。本病於1975年，由本文第一作者在臺南發現，本病病徵與上述 Tomato witches'broom, Tomato big-bud, Tomato "Mal Azul" 相類似，本病之典型病徵爲葉化花之異常分蘖並叢生小葉與帚狀分枝，本報告乃依 young *et al.*[17]之報告，將本病稱爲 Tomato witches'broom。在本病罹病組織之篩管細胞發現有擬菌質體，此項擬菌質體之形態與大小及存在位置等皆與土居等研究者已報告之植物萎黃型病所發現之擬菌質體相類似[1,3,6,9,7,13,18]。

參考文獻

1. 陳脤紀，1972，臺灣植物寄生性菌質之電子顯微鏡研究。國家科學委員會彙報，5：61—78。
2. 楊一郎，1975，臺灣落花生簇葉病之研究。臺灣農業季刊，11：93—108。
3. 土居養二、寺中理明、與良清、明日山秀文，1967，クワ萎縮病，ジヤガイモてんぐ巣病，Aster yellows 感染ペチュニヤならびにきりてんぐ巢病の罹病莖葉篩部に見出された Mycoplasma 様（あるいはＰＬＴ様）微生物について。日本植物病理學會報，33：259—266。
4. 四方英四郎，1972，海外に發生するマイコプラズマ樣微生物による植物の病害。植物防疫，26：184—189。
5. Bennett, C.W. 1943. Influence of contact period on the passage of viruses from scion to stock in Turkish tabacco. Phytopathology 33: 818–822.
6. Bowyer, J.W., J.G. Atherton, D.S. Teakle and G.A. Ahern. 1969. Mycoplasma-like bodies in plants affected by legume little leaf, tomato big bud, and lucerne withes' broom diseases. Aust. J. biol. Sci. 22: 271–274.
7. Dale, J.L., and L.D. Smith. 1975. Mycoplasma-like bodies observed in tomato plants with big bud in Arkansas. Plant Dis. Reptr. 59: 455–458.
8. Dana, B.F. 1940. Occurrence of big bud of tomato in the Pacific Northwest. Phytopathology 30: 866–869.
9. Deloudres, M., V. Borges, and j. F. David-Ferreira. 1968. Presence of mycoplasma in *Lycopersicun esculentum* Mill. with "Mal Azul". Bol. Soc. Broteriana 42: 321–333.
10. Fridlund, P.R. 1967. The relationship of inoculum-receptor contact period to the rate of graft transmission of twelve Prunus viruses. Phytopathology 57: 1296–1299.
11. Granett, A.L., and R. Provvidenti. 1974. Tomato big bud in New York State. Plant Dis. Reptr. 58: 211–214.
12. Kunkel, L.O. 1926. Studies on aster yellows. Amer. J. Bot. 13: 646–705.
13. Maramorosch, K., R.R. Granados, and H. Hirumi. 1970. Mycoplasma diseases of plants and insects. Adva. Virus Res. 16: 135–193.
14. Samuel, G., J.G. Bald, and C.M. Eardley. 1933. "Big bud", a virus disease of the tomato. Phytopathology 23: 641–653.
15. Valenta, V., M. Musil, and S. Misiga. 1961. Investigations on European yellows-type Viruses. I. The stolbur virus. Phytopathol. Z. 42: 1–38.
16. Webb, R.E., and E.S. Schultz. 1958. Possible relation between haywire of potato and big-bud of tomato. Plant Dis. Reptr. 42: 44–47.
17. Young, P.A., and H.E. Morris. 1928. Witches'broom of potatoes and tomatoes. Jour. Agr. Res. 36: 835–854.
18. Zimmerman-Gries, S. and M. Klein. 1978. A tomato big bud-like disease of tomatoes in Israel and its association with Mycoplasma like organisms. Plant Dis. Reptr. 62: 590–594.

STUDIES ON TOMATO WITCHES'BROOM IN TAIWAN (1) GRAFT TRANSMISSION AND ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION

I.L. Yang[1] and M.J. Chen[2]

Tomato witches'broom was first recognized by the senior author in Tainan district, Taiwan in 1975, and it was a newly recorded disease in this island. The diseased plants showed enlarged calyxes of flowers, abnormal upright-growing phylloid blossoms, abnormal little leaves and conical shoots growing from the crowded phylloid blossoms. There were few woody fruits, and the seeds were sterile. These disease symptoms resembled somewhat to those of big-bud, and of 'Mal Azul' diseases in tomatoes. The vector was not known, but the infectious agent could be transmitted by grafting to healthy tomatoes, and the incubation period by grafting ranged from 35 to 55 days.

Electron microscopic examination made on thin-sections of tomato infected with witches'broom revealed the presence of pleomorphic bodies of Mycoplasma-like organism in the sieve tubes of diseased leaf tissues. Size of these bodies ranged from 40 to 740nm in diameter. Since morphology and localization of these bodies were similar to those of Mycoplasma-like organisms found previously elsewhere in witches'broom diseases, these pleomorphic bodies seemed to be the causal organism of tomato witches'broom disease.

1. Plant pathologist, Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Professor, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University.